

AQUASAINS

Jurnal Ilmu Perikanan dan Sumberdaya Perairan
(Vol 13 No. 1 Tahun 2024)

EFFECT OF MICROENCAPSULATED *Lactobacillus* sp. ON CATFISH (*Pangasius hypophthalmus*) INFECTED WITH *Aer- omonas* sp.

Zhafira Putri Kharima^{1*} · Yuniar Mulyani¹ · Iskandar¹ · Roffi
Grandiosa Herman¹

Received: 9 August 2024, Revised: 26 September 2024, Accepted: 2 October 2024

ABSTRACT *The prevention of fish infections caused by Aeromonas sp. bacteria can be achieved using Lactobacillus sp. bacteria. This study aims to identify and analyse the effect of Lactobacillus sp. using the microencapsulation method to treat catfish infected with Aeromonas sp. The identification of Lactobacillus sp. bacteria was conducted through microbiological and molecular tests. After obtaining the test results, the research continued with the application of microencapsulation using the emulsion technique. The impact of this microencapsulation was evaluated on catfish through an experimental approach employing a completely randomised design (CRD), with 10 catfish tested in each experimental aquarium.*

The study included five treatments, designated as A, B, C, D, and E. Treatment A served as the control, without the administration of Lactobacillus. Treatment B involved the application of Lactobacillus without microencapsulation. Treatments C, D, and E utilised varying doses of Lactobacillus at 0.003, 0.005, and 0.007 g/L, respectively. Each treatment was conducted in triplicate. Microbiological and molecular testing identified encapsulated Lactobacillus sp., specifically Lactobacillus helveticus and Lactobacillus johnsonii. The results indicated that treatment D, comprising a dose of 0.005 g/L of Lactobacillus helveticus and Lactobacillus johnsonii, was the most effective in promoting the healing of catfish infected with Aeromonas hydrophila bacteria.

¹ Program Studi Perikanan, Fakultas Perikanan dan Kelautan, Universitas Padjadjaran.

* E-mail: zhafira20004@mail.unpad.ac.id

Keywords: *Completely randomized design, bacterial infection mitigation, probiotic bacteria, emulsion technique.*

PENDAHULUAN

Serangan atau infeksi penyakit pada ikan patin merupakan salah satu faktor yang dapat memengaruhi kelangsungan produksi budi daya ikan (Kurniawan, 2012). Ikan yang terinfeksi suatu penyakit akan mengalami gangguan pada laju pertumbuhannya sehingga hal ini dapat berujung pada kematian (Rahmawati *et al.*, 2021). Penyakit yang menyerang ikan patin dapat disebabkan oleh patogen. Patogen merupakan mikroba yang dapat menimbulkan penyakit (Umniyatie, 2015). Salah satu patogen yang kerap menyerang ikan patin adalah bakteri dari genus *Aeromonas*. Spesies bakteri *Aeromonas* sp. termasuk ke dalam kategori patogen oportunistik. Selain itu, bakteri *Aeromonas* sp. dapat menginfeksi ikan pada saat ikan dalam kondisi stres (Supian, 2015). Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Aeromonas* sp. disebut dengan *Motile Aeromonas Septicemia* atau MAS.

Dalam rangka menanggulangi kerugian akibat serangan bakteri *Aeromonas* sp. tersebut diperlukan adanya suatu upaya penanggulangan pada ikan yang terkena infeksi terutama pada ikan patin. Penanggulangan merupakan tindakan atau suatu upaya yang bertujuan untuk mengatasi suatu hal. Penanggulangan dalam hal ini adalah menanggulangi ikan yang terinfeksi *Aeromonas* sp. Penanggulangan dapat dilakukan dengan berbagai bahan dan metode, salah satunya dapat menggunakan agen makhluk hidup lain (probiotik) seperti memanfaatkan bakteri *Lactobacillus* sp. Bakteri *Lactobacillus* sp. dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen

dengan bakteriosin yang dimilikinya, memulihkan keseimbangan pada saluran pencernaan yakni usus, dan dapat mencegah infeksi pada saluran kemih (Rusli *et al.*, 2018).

Penanggulangan menggunakan agen bakteri ini dapat memanfaatkan metode mikroenkapsulasi. Mikroenkapsulasi adalah suatu proses pelapisan pada partikel yang padat secara tipis dengan bantuan bahan penyalut. Pada beberapa penelitian, metode mikroenkapsulasi digunakan sebagai alternatif untuk menambahkan bakteri probiotik. Penggunaan probiotik bakteri *Bacillus* NP5 dengan metode mikroenkapsulasi yang dicampurkan ke dalam pakan mendapatkan hasil terbaik yakni 3,74 g/hari (Jayanthi & Arico, 2022). Hasil tersebut berpengaruh nyata pada pertumbuhan larva ikan nila. Pemanfaatan metode mikroenkapsulasi pada bakteri *Bacillus subtilis* yang dicampurkan ke dalam pakan udang menghasilkan dampak positif pada udang. Probiotik mikroenkapsulasi yang diberikan dapat meningkatkan kelimpahan *Candidatus bacilloplasma* pada udang (Cheng *et al.*, 2023). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bakteri *Lactobacillus* sp. dan mengkaji dosis terbaik dengan menggunakan metode mikroenkapsulasi terhadap daya tahan tubuh ikan patin yang diinfeksi bakteri patogen *Aeromonas* sp. serta menganalisis hasil pengaruh bakteri *Lactobacillus* sp. terhadap proses penyembuhan ikan patin yang diinfeksi bakteri *Aeromonas* sp.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Kabupaten

Sumedang. Metode penelitian yang dilakukan dalam riset ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Ukuran ikan patin yang digunakan adalah 5 - 6 cm dengan masing-masing akuarium diisi 10 ikan. Terdapat lima perlakuan sesuai dengan dosis mikroenkapsulasi yang berbeda yaitu perlakuan A: Tanpa pemberian *Lactobacillus*, perlakuan B: Pemberian *Lactobacillus* tanpa menggunakan mikroenkapsulasi, dan perlakuan C, D, E pemberian mikroenkapsulasi bakteri *Lactobacillus* dengan 3 dosis berbeda. Pada 3 dosis tersebut, masing - masing dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Pembuatan mikroenkapsulasi mengacu pada Jati *et al.* (2015) dan Mandal *et al.* (2006) yang menggunakan teknik emulsi dengan bahan penyalut natrium alginat. Dalam penelitian ini, bahan penyalut natrium alginat didapatkan dari produk natrium alginat komersial yang tersedia. Perbandingan dari bahan penyalut natrium alginat yang digunakan adalah 1:5 yakni sebanyak 8 mL biomassa sel bakteri dengan 40 mL larutan natrium alginat.

Pemeliharaan dan Uji Tantang

Pemberian mikroenkapsulasi bakteri *Lactobacillus* sp. dengan cara melarutkannya di dalam air sesuai dengan dosis yang diujicobakan dilakukan pada saat hari ke-1 pemeliharaan ikan hingga hari ke-30 pemeliharaan ikan. Sebanyak 1 mL dengan kepadatan 10^8 CFU/mL bakteri *Aeromonas hydrophila* dilarutkan dalam 10 L air akuarium ujiantang selama 6 jam. Hal ini dikarenakan penyebaran *Aeromonas* dapat menunjukkan virulensi yang signifikan dalam kurun waktu tersebut (Thune *et al.*, 1982). Setelah dilakukan perendaman,

ikan patin akan dikembalikan ke akuarium pemeliharaan sebelumnya. Ujiantang dilakukan pada hari ke - 15 penelitian. Ujiantang merupakan suatu analisis yang digunakan pada penelitian ini untuk mengetahui potensi dari bakteri *Lactobacillus* sp. dalam menyembuhkan ikan patin yang diinfeksi oleh bakteri *Aeromonas* sp.

Pemberian bakteri *Lactobacillus* sp. yang sudah melewati pengujian mikroenkapsulasi dilarutkan di air pada akuarium yang masing-masing berisi ikan patin ukuran 5-6 cm dengan kepadatan dalam masing-masing akuarium yakni 10 ekor. Metode pemberian enkapsulasi bakteri *Lactobacillus* sp. menggunakan metode perendaman jangka panjang yang nantinya setiap 2 hari sekali pemeliharaan akan di tambah dengan dosis yang sama pada saat pemberian pertama. Lalu setelah ujiantang dilakukan, dosis enkapsulasi ditambahkan setiap hari. Pemeliharaan ikan akan dilaksanakan selama 30 hari sedangkan ujiantang dimulai pada hari ke 15.

Selama 30 hari pemeliharaan, ikan patin disampling untuk diperiksa kondisi darah, kelangsungan hidup, serta pengecekan kualitas air sebelum dan sesudah pemeliharaan. Selama pemeliharaan, sampling untuk mengecek kondisi darah ikan akan dilakukan sebanyak 3 kali (awal-tengah-akhir) pemeliharaan ikan.

Gejala Klinis

Pengamatan gejala klinis yang timbulkan pada saat ikan uji diinfeksi *A. hydrophila* dilakukan pascaujiantang, dari awal infeksi hingga timbulnya gejala klinis awal. Gejala klinis yang diamati adalah pada bagian tubuh ikan yakni tingkah laku ikan, kerusakan

tubuh yang ditimbulkan, respon kejutan, dan respon pada pakan yang ditimbulkan pasca infeksi.

Analisis Sel Darah Putih Ikan Patin

Analisis darah ikan patin dalam penelitian dilakukan sebanyak 3 kali. Analisis darah ikan dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari pemberian enkapsulasi bakteri *Lactobacillus* sp. terhadap ikan yang diinfeksi bakteri *A. hydrophila*. Analisis darah pada ikan patin dibagi menjadi dua yakni perhitungan leukosit dan diferensial leukosit. Jumlah leukosit dapat dihitung menggunakan cara dan rumus menurut Blaxhall & Daisley (1973).

$$n = \frac{N \text{ total} \times 10}{0,4}$$

Kelangsungan Hidup (*Survival Rate*)

Kelangsungan hidup atau *survival rate* (SR) dihitung pada hasil akhir pemeliharaan ikan patin. Ukuran ikan patin yang digunakan adalah 5–6 cm. Metode yang dilakukan untuk menghitung SR yakni dengan rumus berikut:

$$SR (\%) = \left(\frac{N \text{ Ikan akhir Pemeliharaan}}{N \text{ Ikan awal Pemeliharaan}} \right) \times 100 \%$$

Analisis Data

Data jumlah leukosit dan kelangsungan hidup yang telah dikumpulkan dianalisis menggunakan analisis uji ragam (Uji ANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%. Jika pada penelitian ini memberikan hasil yang optimal maka selanjutnya pengujian dilanjutkan dengan uji Duncan. Jika nilai < F Tabel lebih besar dibandingkan dengan F Hitung maka tidak perlu melakukan uji Duncan (Bayusetiaji *et al.*, 2015). Analisis diferensial leukosit dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gejala Klinis

a. Respon Pakan

Respon pakan merupakan salah satu pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini mulai dari hari ke-1 hingga hari ke-30 (Tabel 1). Pada semua perlakuan dari hari ke-1 hingga hari ke-14, terlihat respon pakan masih dalam kategori sangat baik. Pada hari ke-17 pasca ujiantang, respon pakan yang diberikan dari setiap perlakuan masih dalam kategori baik meskipun terlihat pada permukaan aquarium terdapat pakan yang tersisa. Pada hari ke-18, respon pakan yang ditimbulkan pada semua perlakuan mulai mengalami perubahan yang drastis dengan memperlihatkan sisa pakan yang banyak diikuti dengan respon kejutan yang menurun hingga ikan tidak mau makan. Jika diberikan pakan, ikan cenderung berdiam di dasar kolam dan berenang dengan lambat. hingga hari ke-25. Penurunan respon pakan ini dikarenakan infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri *A. hydrophila* yang membuat ikan terkena penyakit *Motile Aeromonas Septicaemia* akan kehilangan nafsu makan (Sukenda *et al.*, 2008). Selain itu, respon pakan yang menurun terhadap ikan menandakan bahwa ikan tersebut terkena gejala terserang bakteri *A. hydrophila* (Kabata (1985).

Pada hari ke-26, hampir semua perlakuan mulai menunjukkan respon pakan yang baik meskipun tidak mengalami peningkatan. Pada perlakuan A, respon pakan yang diberikan masih memperlihatkan respon pakan yang kurang baik bahkan di antaranya mengalami kematian dan diikuti gejala klinis kerusakan tubuh yang parah. Pada hari ke-27

hingga hari ke-30, hampir setiap perlakuan menunjukkan respon pakan yang lebih baik dari sebelumnya. Hal ini diduga ikan mampu melewati masa kritis yang ditimbulkan oleh infeksi bakteri patogen tersebut selain itu, sistem kekebalan tubuh ikan patin dapat melawan bakteri patogen yang

menginfeksi. Ikan yang dapat bertahan hidup dari infeksi bakteri *A. hydrophila* memperlihatkan tingkat pertahanan non-spesifiknya semakin meningkat (Lukistyowati & Kurniasih, 2011).

Tabel 1. Respon pakan ikan patin pasca uji tantang

Hari Ke-	Perlakuan														
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	E1	E2	E3
15	Uji Tantang														
16	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
17	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
18	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
19	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
20	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
21	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
22	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
23	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
24	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
25	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
26	-	-	-	+	+	++	++	++	+	+++	+	+	-	+	+
27	+	+	+	+	+	++	++	++	+	+++	+	+	+	+	+
28	+	+	+	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++
29	+	+	-	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+++	+	+
30	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	++	+++	+++	++	++

Keterangan :

- + Makan sedikit
- ++ Makan baik
- +++ Makan sangat baik
- Respon tidak ada

b. Respon Kejutan

Respon kejutan merupakan respon yang ditimbulkan ikan ketika diberikan kejutan seperti mengetuk perlahan kaca aquarium. Pada hari ke-1 hingga hari-16 respon kejutan pada setiap perlakuan masih menunjukkan respon yang baik, normal, dan berenang dengan cepat ketika kaca aquarium diketuk. Respon kejutan mulai menurun pada hari ke-18

(Tabel 2). Hampir semua perlakuan menunjukkan respon kejutan yang lambat ketika kaca aquarium diketuk. Ikan yang terkena infeksi bakteri patogen akan mengalami penurunan nafsu makan dan dapat mengalami stres sehingga ikan cenderung berdiam diri di dasar perairan serta berenang dengan lambat. Ikan yang terkena infeksi pen-

yakit akan mengalami perubahan fisiologi tersier pada tubuh ikan (Barton, 2002). Bakteri patogen *A. hydrophila* menginfeksi ikan dengan menonaktifkan komplemen dan menyediakan nutrisi untuk penyebaran sel bakteri patogen. Hal ini dapat membuat ikan stres sehingga dapat berpengaruh pada respon kejutan.

Pada hari ke-26, respon kejutan ikan mulai membaik. Hal ini ditandai dengan pergerakan berenang yang mulai lincah, respon pakan yang mulai bertambah, dan ketika kaca aquarium diketuk

melihat respon kejutannya, hampir pada setiap perlakuan mulai menunjukkan respon yang baik terhadap kejutan namun, perlakuan A pada hari ke-26 masih menunjukkan respon kejutan yang sangat lambat. Pada hari ke-30, hampir dari semua perlakuan mulai merespon kejutan dengan baik. Hal ini juga ditandai dengan respon pakan yang mulai membaik dan ikan berenang aktif. Hal ini diduga ikan-ikan yang ada pada setiap perlakuan tersebut berhasil melewati masa kritisnya dalam melawan bakteri patogen yakni *Aeromonas hydrophila*.

Tabel 2. Respon kejutan ikan patin pasca uji tantang

Hari Ke-	Perlakuan														
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	D1	D2	D3	E1	E2	E3
15	Uji Tantang														
16	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
17	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
18	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	++	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	+	+	-	+	+	+	+	+	-	++	+	+	-	-	+
22	+	+	-	++	+	+	+	+	-	++	++	+	-	-	+
23	+	+	+	++	+	+	+	++	+	++	++	+	-	+	++
24	-	-	+	++	+	++	++	++	+	++	++	+	+	+	++
25	-	-	+	++	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	++
26	+	+	+	++	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	++
27	+	+	++	++	++	++	++	++	++	+++	+	+	+	+	++
28	+	+	++	+++	++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++
29	+	+	++	+++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+++	+	++
30	+	+	++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++

Keterangan :

- + Makan sedikit
- ++ Makan baik
- +++ Makan sangat baik
- Respon tidak ada

c. Kerusakan tubuh

Gejala klinis kerusakan tubuh pada ikan patin yang ditimbulkan karena infeksi bakteri *A. hydrophila* ini menyebabkan

sirip punggung dan sirip perut ikan patin mengalami pengelupasan dan timbul bercak merah selain sirip. Ikan patin memproduksi lendir yang lebih banyak.

Selain bercak merah yang ditimbulkan pada bagian tubuh dan sirip, bercak merah terlihat pada bagian bawah mulut ikan patin dan bagian operculum (Gambar 1).

Bagian tubuh ikan patin mengalami luka dan mengelupasnya bagian kulit pada tubuh ikan patin diikuti dengan ikan patin yang mengalami kematian. Jika dibandingkan dengan ikan patin kontrol yang tidak diberikan perlakuan apapun

dan tidak diuji tantang, pertumbuhannya terlihat sangat berbeda, terlihat dari ukuran tubuhnya yang lebih besar jika dibandingkan dengan ikan yang diberikan perlakuan dengan uji tantang atau probiotik. Quswa *et al.* (2016) menyatakan bahwa, selain kerusakan tubuh, infeksi yang ditimbulkan oleh bakteri *Aeromonas hydrophila* ini membuat ikan akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan.

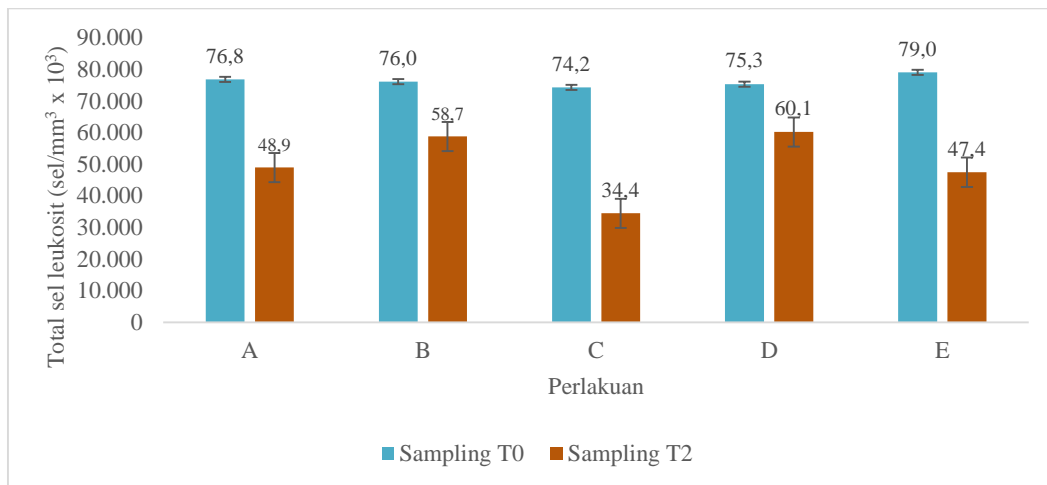


Gambar 1. Kerusakan tubuh yang terjadi akibat infeksi *A. hydrophila*, sirip dan bagian perut ikan mengalami kemerahan (kiri). Kulit dan sirip mengalami pengelupasan dan ikan mengalami kematian (kanan).

Total Leukosit

Peningkatan jumlah leukosit dapat dipengaruhi oleh pemberian enkapsulasi probiotik bakteri *Lactobacillus*. Bakteri *Lactobacillus* dapat memberikan pengaruh yang baik serta manfaat pada kesehatan tubuh. Bakteri *Lactobacillus* memiliki bakteriosin yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit yang disebabkan oleh mikroba patogen. Mekanisme kerja dari antibakteri bakteriosin yang dihasilkan oleh bakteri *Lactobacillus* dapat langsung memberikan efek pada sel target pada mikroorganisme targetnya. Mekanisme kerja yang dihasilkan mampu memperkecil pertumbuhan bakteri patogen baik itu bakteri gram-positif maupun gram-negatif.

Masing-masing dari spesies *Lactobacillus* memiliki pengaruh dan tingkat pemanfaatan yang berbeda. *Lactobacillus crustorum* dapat menghambat aktivitas antibakteri pada pH 6-8 (Zhu *et al.*, 2020). Selain itu, *Lactobacillus acidophilus* dapat menyembuhkan kanker usus besar dengan dosis total 0,21 mg (108 CFU/g). Dalam bidang perikanan, pengaruh pemberian probiotik menggunakan bakteri *Lactobacillus* dapat meningkatkan respon imun dan ketahanan ikan tersebut dalam melawan bakteri patogen (Dimitroglou *et al.* 2011).



Gambar 3. Grafik hasil perhitungan jumlah leukosit ikan patin

Berdasarkan hasil uji analisis menggunakan ANOVA, hasil sampling terakhir (T2) memperlihatkan nilai $p=179,03$ ($P > 0,005$) artinya terdapat perbedaan nilai hitung jumlah leukosit dengan perlakuan yang diberikan probiotik *Lactobacillus* enkapsulasi. Oleh karena itu, hasil analisis ANOVA dapat dilanjutkan dengan uji duncan. Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa perlakuan D yakni pemberian dosis probiotik *Lactobacillus* enkapsulasi sebesar 0,005 g/L merupakan perlakuan yang memberikan pengaruh tertinggi pada jumlah sel leukosit. Perlakuan D berbeda nyata dengan perlakuan B, A, E, dan C sedangkan, perlakuan dengan jumlah total leukosit terendah adalah perlakuan C. Perlakuan C tidak berbeda nyata dengan perlakuan E, A, B, dan D. Perlakuan B tidak berbeda nyata dengan perlakuan D. perlakuan E dan A berbeda nyata dengan perlakuan B dan D.

Perlakuan D merupakan perlakuan dengan jumlah rata-rata sel leukosit tertinggi pada sampling terakhir (T2) sedangkan perlakuan C, merupakan perlakuan terendah dengan jumlah leukosit yang sangat menurun. Hal tersebut diduga pada perlakuan C terjadinya

penekanan respons inflamasi yang berlebihan selain itu, perlakuan C merupakan perlakuan dengan pemberian dosis terendah yakni $3,0 \times 10^7$ CFU/g, dosis yang diberikan dapat memengaruhi jumlah leukosit yang menurun. Menurut Hoseinifar *et al.* (2015) menjelaskan bahwa, pemberian probiotik dengan dosis rendah dapat meningkatkan jumlah sel leukosit namun hanya sementara, hal ini diduga karena dosis probiotik yang rendah tidak cukup untuk mempertahankan jumlah leukosit dan komposisi mikroflora di dalam tubuh ikan dalam waktu yang lama.

Penelitian ini menggunakan dua spesies bakteri *Lactobacillus* yakni bakteri *Lactobacillus helveticus* dan *L. johnsonii* dengan memanfaatkan teknologi mikroenkapsulasi. *L. johnsonii* memiliki manfaat dalam melawan bakteri patogen. Hal ini dikarenakan *Lactobacillus johnsonii* dapat menghasilkan molekul antimikroba termasuk bakteriosin dan peroksida (Wan *et al.*, 2022) sedangkan *Lactobacillus helveticus*, dapat berperan dalam bidang kesehatan dan dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik selain itu, bakteri *L. helveticus* dapat meningkatkan perlindungan tubuh dari

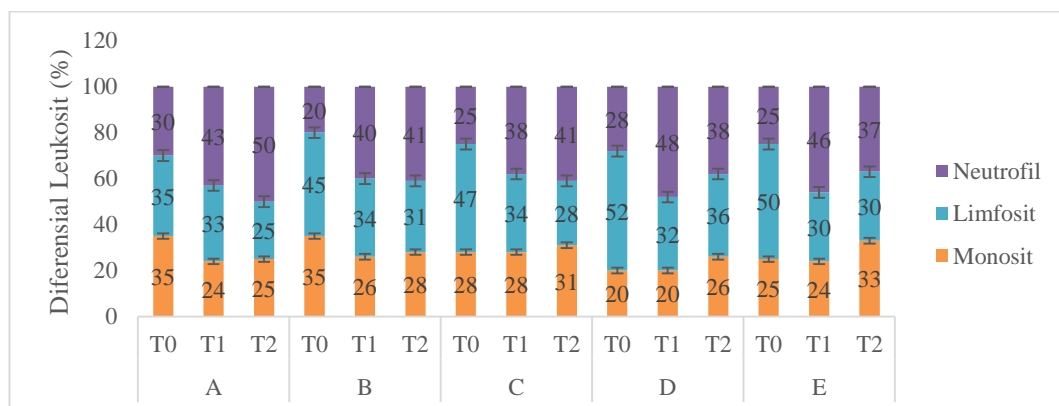
patogen serta dapat mengirimkan sinyal untuk meningkatkan respon imun terhadap tubuh. Masing-masing dari bakteri tersebut memberikan dampak positif pada penelitian yakni terlihat pada kenaikan jumlah leukosit pada ikan dan dapat menyembuhkan ikan patin pasca infeksi bakteri *A. hydrophila*. Penggunaan teknologi enkapsulasi ini memberikan pengaruh yang baik pada bakteri *Lactobacillus helveticus* dan *Lactobacillus johnsonii* dengan bahan penyalut natrium alginat. Dengan memanfaatkan metode mikroenkapsulasi, bakteri probiotik yang disalut terlindungi dari pengaruh lingkungan luar selain itu, penggunaan metode mikroenkapsulasi dapat memperpanjang masa simpan umur bakteri.

Diferensial Leukosit

Diferensial leukosit merupakan jenis-jenis sel darah putih. Pada penelitian ini, diferensial leukosit yang diamati meliputi tiga jenis yakni limfosit, monosit, dan neutrofil. Limfosit merupakan salah satu jenis sel darah putih jenis agranulosit yang tidak memiliki lobus atau segmen dan tidak memiliki granul. Limfosit memiliki tiga jenis yang memiliki

masing-masing fungsi. Sel B dapat berfungsi sebagai sel plasma yakni untuk memproduksi antibodi sedangkan sel T dapat berfungsi sebagai pengendali respon imun dan membantu dalam sistem kekebalan tubuh (Novita *et al.*, 2020), Monosit sebagai perlindungan kedua dalam memproteksi tubuh terhadap benda asing atau infeksi bakteri. Monosit diproduksi dalam kurun waktu 3 hari sebelum akhirnya tersebar keseluruhan jaringan tubuh. monosit akan memakan zat atau benda asing yang masuk kedalam tubuh ikan dan menghantarkan sinyal mengenai infeksi penyakit kepada sel leukosit (Utami *et al.*, 2013). Menurut Lukistyowati *et al.* (2007) menjelaskan bahwa, kisaran jumlah monosit ikan patin normal berkisar antara 5 – 13% dan neutrofil merupakan sel darah putih yang memiliki fungsi sebagai memfagosit infeksi yang disebabkan oleh patogen penyakit atau yang memproteksi dari serangan lainnya (Novita *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil riset, berikut merupakan rata – rata diferensial leukosit dari semua perlakuan.



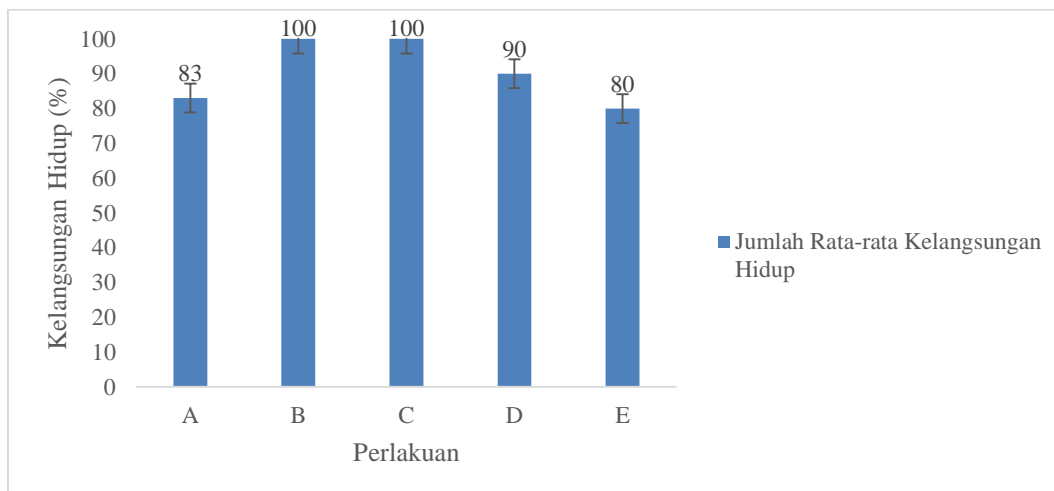
Gambar 4. Rata-rata Diferensial Leukosit pada Perlakuan

Berdasarkan Gambar 4, grafik dari setiap jumlah diferensial leukosit menunjukkan bahwa, neutrofil merupakan jenis leukosit yang paling banyak jumlah kenaikannya pada akhir pengamatan (T2). Adanya peningkatan jumlah neutrofil pada saat pemberian probiotik *Lactobacillus* (T1) dan pasca ujiantang (T2). Hal tersebut dikarenakan adanya pengaruh pemberian probiotik *Lactobacillus* pada ikan patin. Neutrofil merupakan salah satu jenis sel leukosit yang memiliki fungsi sebagai pertahanan awal untuk melawan penyakit atau patogen. Neutrofil akan berjalan melalui pembuluh darah. Setelah berada di tempat infeksi, neutrofil akan melakukan pertahanan awal melalui fagositosis mikroba, sekresi protein, dan antimikroba lainnya (Harvie dan Huttenlocher, 2015). Probiotik *Lactobacillus* dapat memproduksi senyawa-senyawa yang membuat tubuh ikan untuk memproduksi neutrofil. Menurut Ramirez *et al.* (2017) *Lactobacillus*

dapat meningkatkan jumlah produksi senyawa sitokin proinflamasi yakni TNF- α , IL-12, dan IL-8 selain itu, beberapa strain *Lactobacillus* dapat meningkatkan sekresi sitokin antiinflamasi seperti IL-10. Produksi senyawa sitokin ini akan berpengaruh terhadap peningkatan jumlah neutrofil. Selain senyawa sitokin ini, probiotik *Lactobacillus* memiliki kemampuan untuk memberikan sinyal penting pada sistem imun sehingga, dapat meningkatkan sistem imun (Panigrahi *et al.*, 2007). Probiotik *Lactobacillus* dapat berperan dalam meningkatkan kemampuan neutrofil untuk memfagositosis patogen menjadi lebih baik.

Kelangsungan Hidup (*Survival Rate*)

Data hasil kelangsungan hidup pada pemeliharaan ikan patin dalam pemberian probiotik *Lactobacillus* terhadap ikan patin yang terinfeksi bakteri *A. hydrophilla* pada setiap perlakuan dapat dilihat pada gambar 5 berikut.



Gambar 5. Grafik Kelangsungan Hidup Ikan Patin

Berdasarkan hasil uji analisis menggunakan ANOVA, Hasil kelangsungan hidup memperlihatkan hasil $p = 3,21$ ($P < 0,005$) artinya tidak terdapat perbedaan nyata pada kelangsungan

hidup dengan perlakuan pemberian probiotik *Lactobacillus* dengan enkapsulasi. Kelangsungan hidup ikan patin pada perlakuan B dan C dari awal –

akhir pemeliharaan menunjukkan persentase sebesar 100%, perlakuan D sebesar 90%, perlakuan E sebesar 80%, dan perlakuan A sebesar 83%. Jika ditinjau, perlakuan E merupakan perlakuan terendah dalam parameter kelangsungan hidup sedangkan, perlakuan A merupakan perlakuan kontrol yang memiliki tingkat kelangsungan hidup yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan E. Hal ini diduga karena ikan menggunakan probiotik dosis tertinggi yakni 0,007 g/L. Dalam dosis tersebut memuat $3,2 \times 10^7$ CFU/g bakteri *Lactobacillus helveticus* dan *Lactobacillus johnsonii* sehingga, ikan patin perlakuan E mengalami ketidakseimbangan dalam tubuhnya. Hal tersebut diduga karena induksi imun yang berlebihan.

Induksi imun yang berlebihan ini menyebabkan aktivasi yang berlebihan pada sistem imun bawaan, hal ini mengganggu kesehatan ikan seperti membuat ikan stress dan kerusakan jaringan pada ikan (Panigrahi *et al.*, 2007). Selain itu, terjadinya ketidakseimbangan dalam tubuh ikan patin dapat disebabkan karena probiotik *Lactobacillus* yang diberikan dapat mendominasi secara berlebihan sehingga hal tersebut dapat mengganggu komposisi mikrobiota yang seimbang serta dapat memicu respons inflamasi yang berlebih (Panigrahi *et al.*, 2007). Hal ini dapat berkaitan dengan penambahan rutin probiotik yang diberikan. Pada penelitian yang dilakukan oleh Chatterjee *et al.* (2017) menjelaskan bahwa pada ikan Rohu yang perlakuan kontrolnya tidak diberikan penambahan probiotik bakteri *Bacillus coagulans* memberikan tingkat kelangsungan hidup yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ikan Rohu yang diberikan penambahan probiotik pada pakannya, hal ini diduga karena dosis probiotik

yang diberikan belum tepat atau lebih tinggi. Pendugaan lainnya adalah adanya bakteri probiotik *Lactobacillus* yang masuk ke dalam akuarium perlakuan A pada saat proses siphon. Hal ini dikarenakan metode dalam pemberian probiotik *Lactobacillus* dilarutkan di dalam air sehingga, adanya kemungkinan tersebut.

Jika dibandingkan ikan perlakuan A dengan perlakuan E, ikan kontrol pada perlakuan A diduga memiliki mikrobiota alami yang lebih adaptif dalam mempertahankan keseimbangan tubuh ikan sehingga, ikan kontrol A dengan persentase kelangsungan hidup 83% dapat bertahan dari infeksi *Aeromonas* namun, meskipun ikan kontrol A mengalami kematian yang lebih rendah dari perlakuan E, jika dibandingkan dengan jumlah leukosit, perlakuan A memiliki jumlah leukosit yang lebih rendah dari perlakuan E pasca diberikan probiotik *Lactobacillus*. Meskipun perlakuan E mengalami tingkat kelangsungan hidup yang lebih rendah dari perlakuan A, pengaruh pemberian probiotik *Lactobacillus* ini dapat berpengaruh pada kesembuhan ikan patin.

KESIMPULAN

Bakteri *Lactobacillus helveticus* dan *Lactobacillus johnsonii* berpengaruh dalam peningkatan daya tahan tubuh ikan patin yang diinfeksi bakteri patogen *Aeromonas hydrophila*. Perlakuan D merupakan perlakuan terbaik dengan dosis 0,005 g/L. Teknik emulsifikasi bakteri *Lactobacillus helveticus* dan *Lactobacillus johnsonii* berpengaruh terhadap proses penyembuhan ikan patin yang diinfeksi bakteri *Aeromonas hydrophila*.

Acknowledgements

Terima kasih kepada Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Akuakultur, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Padjadjaran atas fasilitas Laboratorium yang dapat digunakan dalam melaksanakan penelitian ini.

PUSTAKA

- Bayusetiaji, A., Basuki, F., & Haditomo, A. (2015). Kajian perbedaan konsentrasi larutan garam pada perendaman rgh dan vaksin terhadap kelulushidupan dan pertumbuhan benih ikan lele sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 4(4), 1–10.
- Blaxhall, P. C., & Daisley, K. W. (1973). A rapid method for the determination of fish serum comparative physiological and biochemical studies. *Journal of Fish Biology*, 5.
- Chatterjee, S., Ghosh, S. K., Mohanty, B. P., & Pradhan, P. K. (2017). Dietary supplementation of probiotic *Bacillus coagulans*: effects on growth performance, nutrient utilization, immune response, and resistance to aeromonas hydrophila infection in the freshwater fish *Labeo rohita* (Hamilton). *Aquaculture*, 467.
- Cheng, A. C., Ballantyne, R., Chiu, S. - T., & Liu, C. H. (2023). Microencapsulation of *Bacillus subtilis* E20 probiotic, a promising approach for the enrichment of intestinal microbiome in white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Fishes*, 8(5), 264. <https://doi.org/10.3390/fishes8050264>
- Dimitroglou, A., Merrifield, D., Carnevali, O., Picchiatti, S., Avella, M., Daniels, C., Derya, G., & Davies, S. (2011). Microbial manipulations to improve fish health and production – A Mediterranean perspective. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(1).
- Hoseinifar, S. H., Esteban, M. Á., Cuesta, A., & Sun, Y.-Z. (2015). Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 6.
- Jayanthi, S., & Arico, Z. (2022). Pengayaan *Brachionus plicatilis* dengan fortifikasi probiotik sebagai pakan ikan air tawar tinggi nutrisi. *Jurnal Jeumpa*, 9(2), 795-804.
- Kabata. (1985). *Parasites and Diseases of Fish Culture in the Tropics*. Taylor Francis. London. 318p.
- Kurniawan, A. (2012). *Penyakit Akutik*. UBB Press. Bangka Belitung. 225 hlm.
- Leung, K. Y., & Stevenson, R. M. W. (1988). Tn5-induced protease-deficient strains of *Aeromonas hydrophila* with reduced virulence for fish. *Infection and Immunity*, 56.
- Lukistyowati, I., Windarti, & Riauwaty, M. (2007). Analisis hematologi sebagai penentu status kesehatan

- ikan air tawar di Pekanbaru. *Jurnal Akuatika*, 2(2).
- Lukistyowati, L., & Kurniasih. (2011). Kelulushidupan Ikan mas (*Cyprinus carpio* L) yang diberi pakan ekstrak bawang putih (*Allium sativum*) dan diinfeksi *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 16(1).
- Novita, Setyowati, D. N., & Astriana, B. (2020). Profil darah ikan kakap putih yang diinfeksi bakteri *Vibrio* sp. dengan pemberian lidah buaya (*Aloe vera*). *Jurnal Perikanan*, 10(1), 55–69.
- Panigrahi, A., Kiron, V., Satoh, S., Hirono, I., Kobayashi, T., Sugita, H., & Aoki, T. (2007). Immune modulation and expression of cytokine genes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* upon probiotic feeding. *PubMed Central National Library of Medicine*, 31(4).
- Rahmawati, A. R., Ulkhaq, M. F., Susanti, D., Kenconoajati, H., & Fasya, A. H. (2021). Identifikasi bakteri *Aeromonas salmonicida* dan *Edwardsiella ictalury* pada ikan hidup yang akan dilalulintaskan dari Daerah Istimewa Yogyakarta. *Journal of Marine and Coastal Science*, 10(2).
- Ramirez, L. R., Solano, P. R., Alonso, C. S., Guerrero, M. S., Pachero, R. A., Garibay, G. M., & Eslava, C. (2017). Probiotic *Lactobacillus* strains stimulate the inflammatory response and activate human macrophages. *Immunology Research*.
- Rusli, Amalia, F., & Dwyana, Z. (2018). Potensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebagai antidiare dan imunomodulator bioma. *Jurnal Biologi Makassar*, 3(2).
- Supian, E. (2015). *Penanggulangan Hama dan Penyakit pada Ikan, Solusi Budidaya Ikan yang Sehat dan Menguntungkan*. Pustaka Baru Press.
- Umniyatie, S. (2015). Mengetahui berbagai macam mikroba patogen pencemar pangan. *Jurnal Ilmiah WUNY*, 16(6). <https://doi.org/10.21831/jwuny.v16i6.4457>
- Utami, D., Prayitno, S., Hastuti, S., & Santika, A. (2013). Gambaran parameter hematologis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology*, 2(4), 7–20.
- Wan, Z., Zhang, X., Jia, X., Qin, Y., Sun, N., Xin, J., Zeng, Y., Jing, B., Fang, J., Pan, K., Zeng, D., & Bai, Y. (2022). *Lactobacillus johnsonii* YH1136 plays a protective role against endogenous pathogenic bacteria induced intestinal dysfunction by reconstructing gut microbiota in mice exposed at high altitude. *Frontiers in Immunology*, 13.
- Zhang, J., Du, P., Gao, J., Yang, B., & Fang, W. (2012). Preoperative probiotics decrease postoperative infectious complications of colorectal cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 343(3), 199–205.

<https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e31823aace6>

Journal of Biological Macromolecules, 164.

Zhu, Q., Huimin, S., Qiaqia, Z., Lanhua, Y., Xin, W., Yuanyuan, S., Yanglei, Y., Bianfang, L., Yuan, Z., & Xin, L. (2020). Characterization and antibacterial action mode of bacteriocin BMP32r and its application as antimicrobial agent for the therapy of multidrug-resistant bacterial infection. *International*

Kontribusi Penulis: *Kharima, Z.P.: mengumpulkan data, analisis data, menulis manuskrip, Mulyani, Y., Iskandar, Herman, R.G.: analisis data, menulis manuskrip.*